ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA
VOL. IX—1 SECTIO D. 1954

Z Zakładu Histologii i Embriologii Akademii Medycznej w Lublinie
Kierownik: prof. kontr. doc. dr med. Stanisław Grzycki

Stanisław GRZYCKI i Józef STASZYC

Badania doświadczalne nad układem makrofagów w płucach

Экспериментальные исследования по расположению макрофагов в легких

Experimental Investigations on the Macrophage System in the lungs

Umiejscowienie i czynność komórek żernych w płucach były rozpatrywane przez licznych badaczy. W wyniku jednak tych badań nie zostało rozstrzygnięte: 1) czy makrofagi płuc są zmienionymi monocytami krwi, 2) czy tworzą się one ze śródbłonka naczyń włosowatych otaczających pęcherzyki płucne, 3) czy powstają przez oderwanie się z tzw. nabłonka oddechowego, i wreszcie 4) czy są to właściwe komórki układu czynnej mezenchymy występujące w tkance łącznej płuca.

Zagadnienie makrofagów w płucach rozpatrywali: Slavjansky (1869), Westhues (1922—1925), Lang (1926), Gardner i Smith (1927), Gross (1927), Foot (1927), Carleton (1925—1934), Cappell (1929), Węsław (1927—1934), Bremer (1935), Josselyn (1935), Robertson (1941), Marshall (1946), Policard (1926—1950) i inni.

Marshall po zastosowaniu metod srebrowych wykazał dwa typy makrofagów w tkance dokołanaczyniowej, dokołaoskrzelowej, limfatycznej i w ściankach pęcherzyków płucnych. Typ I (interstitial histiocytes) cechował się olbrzymią różnorodnością form, przy czym wiele z nich zawierało w cytoplazmie ziarenka pyłkowe. Typ II (amoeboid wandering cells) występował przede wszystkim w świetle pęcherzyków płucnych w warunkach pato-

logicznych (np. *pneumonia lobaris, bronchopneumonia, tuberculosis pulmonum, carcinoma pulmonum, infarctus haemorrhagicus pulmonum).* Komórki te były prawdopodobnie złuszczonymi komórkami nabłonka oddechowego, wykazującymi zdolności żerne. Do podobnych wyników doszli Westhues, Gardner, Smith, Carleton, Policard i Węsław, którzy uważają, że komórki żerne występujące w pęcherzykach płucnych są niczym innym jak tylko złuszczonym nabłonkiem oddechowym. Josselyn, Bremer, Robertson, Lang i Foot natomiast obserwując „dust cells" wyrazili pogląd, że są one monocytami albo histiocytami krwi. Do bardzo ciekawych wyników doszli Timofejewski i Benewolenskaja po założeniu hodowli płuca in vitro. Zauważyli oni, że już po upływie kilku godzin komórki pęcherzyków zaokrąglały się, wpadały do światła pęcherzyków płucnych i okazywały zdolności żerne. Fagocytowały one pojedyncze erytrocyty i leukocyty, przy czym pomagały sobie krótkimi, grubymi nibynóżkami i przesuwały się z miejsca na miejsce. Wszystkie te czynności były jeszcze dobrze widoczne w 2 i 3 dniu hodowli.

Zbyt wielka rozbieżność w rozwiązaniu zagadnienia dotyczącego układu makrofagów w płucach upoważnia nas do podjęcia nowych prób, których celem jest prześledzenie zachowania się komórek żernych typu histiocytarnego i nabłonka płucnego w warunkach doświadczalnych.

Materiał doświadczalny i metodyka badań

Badania doświadczalne przeprowadzono nad jednorocznymi białymi myszkami wagi około 25 g. Umieszczono je w szklanym ruchomym bębnie średnicy 20 cm, długości 25 cm, w którym rozpylano sproszkowany węgiel względnie sadze. Bęben ten poruszany przy pomocy silnika elektrycznego wykonywał cztery obroty na minutę, a tym samym myszki zmuszone były do chodzenia i jednocześnie oddychania atmosferą pyłową.

Pierwsze doświadczenie trwało 20 minut, drugie 60 minut, trzecie $1^1/_2$ godziny, czwarte 3, a piąte 5 godzin.

Płuca utrwalano w formolu obojętnym 1:9, alkohol-formolu i w płynach Regauda, Bouina i Carnoya. Skrawki mikrotomowe grubości 6—10 mikronów podbarwiano hematoksyliną i eozyną.

Badania własne

Gdy obserwuje się w różnych czasach, od kilku minut do kilku godzin, zachowanie się tkanki płucnej, do której doświadczalnie wprowadzono drogą powietrzną drobniutkie pyłki węgla lub sadz, można zauważyć już od pierwszych chwil wyraźne rozszerzenie i przekrwienie naczyń włosowatych, a następnie odkładanie się wdychiwanych cząsteczek w komórkach, które przejawiają zdolności żerne.

Objaw przekrwienia tkanki płucnej cechował pierwszą grupę myszek doświadczalnych, które wdychiwały zapylone powietrze przez 20 minut. W płucach nie widziało się zupełnie odkładania pyłków, sekcyjnie stwierdzono zatrzymanie się pyłków węgla lub sadz tylko w górnych drogach oddechowych łącznie z tchawicą.

Po 60 minutach oddychania można było zauważyć stopniowe przesuwanie się zapylenia w kierunku oskrzeli dużych i małych, w płucach jednak oprócz znacznego przekrwienia nie odnaleziono wdychiwanych pyłów. Mimo braku pyłów w pęcherzykach można było obserwować wzrost objętości niektórych komórek nabłonka oddechowego, co prawdopodobnie powstało w wyniku żywszego krążenia krwi w naczyniach włosowatych. Na tę zdolność zwrócił również uwagę P o l i c a r d i nazywa ten stan pierwszym okresem procesu zapalnego aseptycznego. P o l i c a r d podaje nawet, że komórki te ujawniają zdolność fagocytozy i po oderwaniu się od podłoża stają się komórkami pyłowymi, co równocześnie poszerza zapatrywania na histofizjologię nabłonka płucnego.

Pozwolono myszkom oddychać zapylonym powietrzem przez 90 minut ($1^1/_2$ godziny), chciano bowiem doprowadzić pył węglowy (sadze) do pęcherzyków płucnych. I w istocie w płucach myszek z tego okresu doświadczenia już można było sfotografować w przestrzeniach międzypęcherzykowych wielokształtne, przeważnie jednak wrzecionowate komórki obładowane mniejszą lub większą ilością pyłków węgla (sadz). (Mikrofot. Nr 1).

Zastanowiła nas droga dostania się pyłów do przestrzeni międzypęcherzykowych, tym bardziej, że w komórkach wyścielających pęcherzyki płucne nie znaleźliśmy wdychiwanych pyłów. Szczególną zaś uwagę zwróciliśmy na komórki, które powiększyły swoją objętość, ale i w tych komórkach nie znajdowaliśmy węgla.

Ten stan upoważnił nas do robienia dalszych doświadczeń i jeszcze dokładniejszych obserwacji mikroskopowych, ponieważ dotychczasowe obrazy nie tłumaczyły powstawania komórek pyłowych ani pylicy płuc.



Mikrofotografia Nr 1

W atmosferze pyłowej przetrzymaliśmy myszki przez 3 i 5 godzin. W tej ostatniej grupie (5 godzin) prawie wszystkie myszki padły po kilku lub kilkunastu godzinach od chwili zaprzestania doświadczenia. W płucach ich wystąpiły bardzo wyraźne zmiany ostrego zapalenia miąższowego z przekrwieniem czynnym i obrzękiem, oraz zwątrobieniem czerwonym.

Najciekawsze obrazy otrzymaliśmy w 4-tej grupie doświadczalnej, w której myszki przez 3 godziny wdychiwały zapylone powietrze. Wielkie złogi pyłów węglowych nagromadzone były przede wszystkim dokoła rozszerzonych naczyń krwionośnych i w przestrzeniach międzypęcherzykowych. (Mikrofot. Nr 2).

Ten obraz odpowiadał rozmieszczeniu komórek fagocytarnych w płucach, które jako czynny element tkanki łącznej znajdowały się wszędzie tam, gdzie ona występowała. Komórki żerne odpowiadały cytomorfologicznie i cytofizjologicznie komórkom histiocytar-

nym, a nawet histiocytom-poliblastom. Nie zanotowano innych wyraźnych zmian tzw. procesu zapalnego aseptycznego, za wyjątkiem znacznego stopnia rozszerzenia naczyń krwionośnych i zwiększenia objętości komórek nabłonka oddechowego w niektórych pęcherzykach płucnych. Zbyt obfite rozmieszczenie komórek histiocytarnych w tkance zrębowej płuca dawało obraz układu makrofagów i świadczyło o sprawności fizjologicznej tkanki płucnej.



Mikrofotografia Nr 2

Nie należała do rzadkości obserwacja częściowego lub całkowitego przechodzenia fagocytujących komórek do światła pęcherzyka. (Mikrofot. Nr 3 i 4).

Komórki te charakteryzowały się zmiennością formy, która uzależniona była od ilości, długości i szerokości cytoplazmatycznych wypustek, oraz od ilości sfagocytowanych ziarenek. W tych wszystkich różnych formach komórek jądro ich zachowywało prawie zawsze swój kształt owalny lub nerkowaty, który cechuje monocyty (makrofagi) krwi. Być więc może, że przekrwienie czynne w tkance płucnej przyczynia się do zmobilizowania mono-

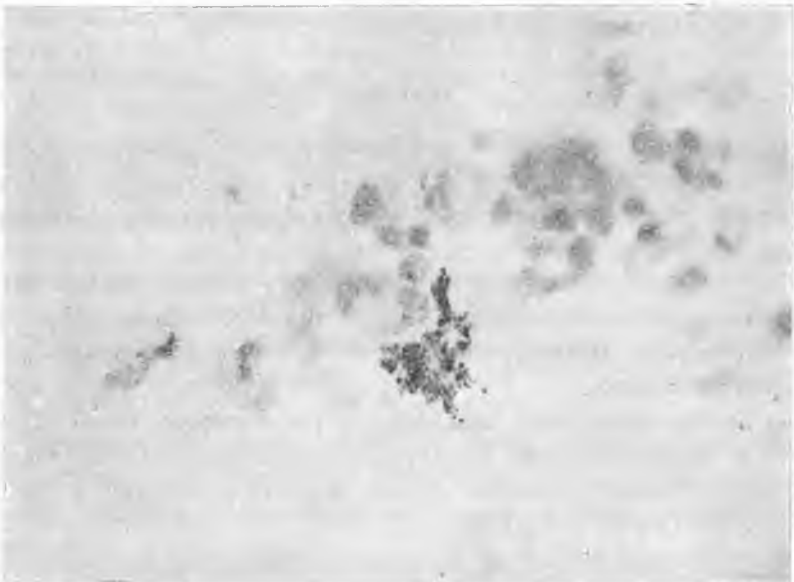
cytów krwi, które w tym wypadku łącznie z histiocytami tkanki biorą czynny udział w procesie obronnym płuca. Komórkom więc tym należało by przypisać szczególną rolę, nie tylko wychwytywania ciał obcych, ale i deponowania ich w tkance łącznej płuca i w tkance limfatycznej. Monocyty krwi także po wypadnięciu do światła pęcherzyka mogą stanowić tzw. komórki pyłowe. (Mikrofot. Nr 4).



Mikrofotografia Nr 3

Pozostaje zagadnieniem niewyjaśnionym, jaki jest udział nabłonka oddechowego, który nawet w tak wielkiej blokadzie układu makrofagów nie okazywał w naszych doświadczeniach zdolności fagocytarnych. Wprawdzie W ę s ł a w zdolność tę określa jako cechę drugorzędną i specjalną charakteryzującą stan dynamiczny pęcherzyków, to jednak P o l i c a r d uważa, że komórki pęcherzyków płucnych cechę tę nabywają po uzyskaniu tzw. „d o j r z a ł o ś c i". Dojrzałość wyraża się zwiększeniem objętości i przyjęciem przez cytoplazmę większej ilości wody. Proces ten więc związany jest ze zmianą krążenia miejscowego. Przemieszczone przez ruchy oddechowe drobne cząsteczki węgla lub sadz przylepiają się do powierzchni zewnętrznej pęcherzyków i mogą być przez komórki wchłonięte do cytoplazmy.

Ten punkt widzenia Policarda prawdopodobnie nie jest pozbawiony słuszności, na co zresztą wskazywały badania Timofejewskiego i Benewolenskiej. Na naszych preparatach spostrzegaliśmy również mniejszą lub większą ilość ziarenek przylegających tu i ówdzie do powierzchni zewnętrznej nabłonka oddechowego, ale na żadnym preparacie, mimo bardzo dokładnych



Mikrofotografia Nr 4

obserwacji, w cytoplazmie komórek nie znaleźliśmy pyłów. Na podstawie tych badań należało by zatem odrzucić możność fagocytozy komórek pęcherzyków płucnych nawet w okresie tzw. „dojrzałości".

Pył węglowy lub sadze dostawały się prawdopodobnie do przestrzeni międzypęcherzykowych nie bezpośrednio, ale, jak wydawało się nam, na drodze pośredniej. Drogę pośrednią tworzyły makrofagi i histiocyty. Stwierdzona przez nas zdolność przedostawania się jeśli nie całych komórek żernych, to przynajmniej mniejszej lub większej ilości wypustek cytoplazmatycznych tych komórek pomiędzy przestrzeniami śródnabłonkowymi do światła pęcherzyka może powodować wychwytywanie pyłów nałożonych na powierzchnię zewnętrzną pęcherzyka, a następnie wycofanie

się makrofagu do tkanki międzypęcherzykowej. Ta czynność fizjologiczna komórek żernych tłumaczy nam obrazy gromadzenia się ich w przestrzeniach międzypęcherzykowych, a następnie dokoła naczyń krwionośnych. Jeśli natomiast komórka żerna nie jest w stanie cofnąć się, albo skutkiem zbyt wielkiego przeładowania pyłami węgla (sadz), albo skutkiem tego, że przedostała się całkowicie na powierzchnię zewnętrzną komórek pęcherzyka, pozostaje ona w świetle pęcherzyka jako komórka pyłowa.

Wnioski

Przebadanie zachowania się tkanki płucnej białych myszek, które oddychały atmosferą pyłową (pył węglowy, sadze) przez 20 min., 60 min., 1½ godz., 3 i 5 godzin doprowadziło do następujących wniosków:

1) Nabłonek pęcherzyków płucnych nie posiada zdolności żernych, nawet mimo zwiększenia objętości i uwodnienia cytoplazmy spowodowanych prawdopodobnie skutkiem zwiększonego przekrwienia czynnego.

2) Zwiększenie ilości makrofagów (monocytów) krwi i histiocytów w tkance łącznej międzypęcherzykowej świadczy o podrażnieniu i zmobilizowaniu układu komórek żernych w tkance płucnej. (Mikrofot. Nr 1 i 2).

3) Makrofagi zdolne są do przedostawania się do światła pęcherzyków płucnych, wychwytywania nagromadzonych w nich pyłów, a następnie do odkładania tych pyłów w przestrzeniach międzypęcherzykowych. (Mikrofot. Nr 3 i 4). Makrofagi zatem stanowią najbardziej czynny element fagocytarny tkanki płucnej.

4) Makrofagi po wydostaniu się do światła pęcherzyków płucnych mogą stawać się tak zwanymi komórkami pyłowymi. (Mikrofot. Nr 4).

PIŚMIENNICTWO

1. Bremer J. L.: Carnegie Inst. of. Wash. Contr. to Embryol. Vol. 25, Nr 147, str. 83—112, 1935.
2. Cappell D. F.: Journ. Pathol. a. Bacteriol. Vol. 32, str. 675—707, 1929.
3. Carleton H. M. — Bull. Histol. appliq. Vol. 2, str. 375—383, 1925.
4. Carleton H. M.: Quart. Journ. Microsc. Scien. Vol. 71, str. 223—237, 1927.
5. Carleton H. M.: Proc. Roy. Soc. London. Vol. 114, str. 513—523 1934.
6. Foot N. Ch.: Amer. Journ. Pathol. Vol. 3, str. 413—443, 1927.

7. Gardner L. U., Smith D. T.: Amer. Journ. Pathol. Vol. 3, str. 445—460, 1927.
8. Gross F.: Beitr. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Vol. 76, str. 374—395, 1927.
9. Josselyn L. E.: Anat. Rec. Vol. 62, str. 147—178, 1935.
10. Lang T. J.: Arch. exper. Zellforsch. Vol. 2, str. 93—122, 1926.
11. Marshall A. H. E.: Journ. Path. a. Bacteriol. Vol. 58, str. 729—738, 1946.
12. Policard A.: Bull. Histol. appliq. Vol. 3, str. 236, 1926.
13. Policard A.: Bull. Histol. appliq. Vol. 27, str. 47—52, 1950.
14. Robertson O. H.: Physiol. Rev. Vol. 21, str. 112—139, 1941.
15. Slavjansky K.: Arch. pathol. Anat. Physiol. Vol. 48, str. 326—332, 1869.
16. Timofejewski A. D., Benewolenskaja S. W.: Virch. Arch. Vol. 255, str. 613—624, 1925.
17. Wenslaw A.: Cpt. rend. Soc. Biol. Vol. 97, str. 970, 1927.
18. Wenslaw A.: Cpt. rend. Soc. Biol. Vol. 106, str. 867, 1931.
19. Węsław W.: Przyczynki do histofizjologii i histopatologii nabłonka płucnego. (Poznańskie Tow. Przyj. Nauk, Poznań, 1934).
20. Westhues H.: Beitr. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Vol. 70, str. 223—233, 1922.
21. Westhues H., Westhues M.: Beitr. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Vol. 74, str. 432—434, 1925.

Резюме

Изучение состояния легочной ткани белых мышей, дышавших запыленным воздухом (угольная пыль, сажа) в течение 20 мин., 60 мин., 1,5 часа, 3 и 5 часов привело к следующим выводам:

1) Эпителий легочных альвеол не обладает фагоцитарными свойствами, даже в случае увеличения объема и разжижения цитоплазмы, вызванных повидимому, увеличенной активной гипермией.

2) Увеличение количества макрофагов (моноцитов) крови, а также гистоцитов в соединительной межальвеолярной ткани свидетельствует о побуждении и мобилизации фагоцитарных клеток имеющихся в легочной ткани (микрофот. нр 1 и 2).

3) Макрофаги обладают способностью проникать в просвет легочных альвеол, где они захватывают нагроможденные в них пылинки и затем откладывают эти пылинки в межальвеолярных пространствах (микрофот. нр 3 и 4). Макрофаги стало быть, представляют собой наиболее активный фагоцитарный элемент в легочной ткани.

4) Макрофаги после проникновения в просвет легочных пузырьков могут превратиться в так называемые пыльные клетки (микрофот. нр 4).

SUMMARY

The author investigated the behaviour of pulmonary tissue of white mice which had been placed in dusty atmosphere (coal dust, soot) for 20 min., 60 min., 1½ hour, 3 and 5 hours. The results of the investigations lead to the following conclusions:

1. The epithelium of pulmonary alveoli has no phagocytic properties, in spite of their increase in volume and imbibition of water by the cytoplasm, probably caused by an increased active hyperaemia.

2. The increased number of macrophages (monocytes) of blood and of histiocytes in the alveolar connective tissue points to an irritation and mobilization of the phagocytic system in the pulmonary tissue (Microphot. Nr 1 and 2).

3. The macrophages are able to penetrate into the lumen of pulmonary alveoli, where they intercept the accumulated particles of dust carrying them away and depositing them in interalveolar spaces (Microphot. Nr 3 and 4). Macrophages can be therefore regarded as the most active phagocytic element of the pulmonary tissue.

4. Having penetrated into the lumen of the alveoli, macrophages can become the so-called dust-cells (Microphot. Nr 4).

Papier druk. sat. III kl. 80 g Format 70 x 100 Druku 10 str.
Annales U. M. C S. Lublin 1954 Lub. Druk. Prasowa —Lublin, Buczka 12. Zam. 1903 7.VII.1954 r.
825 egz. A-5-27242 Data otrzymania manuskryptu 7.VII.1954 r. Data ukończenia druku 15 X.54.